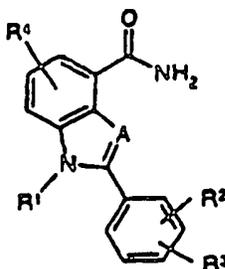


(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : C07D 235/18, A61K 31/4184, C07D 209/14, A61K 31/404, A61P 25/00	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/29384 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 25. Mai 2000 (25.05.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/08466 (22) Internationales Anmeldedatum: 5. November 1999 (05.11.99) (30) Prioritätsdaten: 198 52 816.7 17. November 1998 (17.11.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LUBISCH, Wilfried [DE/DE]; Häuserstrasse 15, D-69115 Heidelberg (DE). KOCK, Michael [DE/DE]; Lillengasse 80, D-67105 Schifferstadt (DE). HÖGER, Thomas [DE/DE]; Rathenaustrasse 12, D-68535 Edingen-Neckarhausen (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.	

(54) Title: 2-PHENYLBENZIMIDAZOLES AND 2-PHENYLINDOLES, AND PRODUCTION AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: 2-PHENYLBENZIMIDAZOLE UND 2-PHENYLINDOLE, DEREN HERSTELLUNG UND ANWENDUNG



(I)

(57) Abstract

The invention relates to the use of 2-phenyl-benzimidazoles and 2-phenylindoles of general formula (I), wherein A means N or CH, R¹ means hydrogen, branched and unbranched C₁-C₆ alkyl and a C-atom of the alkyl radical can also carry an OR¹¹ or a group R⁵, R² means hydrogen, chlorine, fluorine, bromine, iodine, branched and unbranched C₁-C₆ alkyl, nitro, CF₃, CN, NR²¹R²², NH-CO-R²³, OR²¹, R³ means (CH₂)_q-NR³¹R³² and q can be 0, 1, 2 or 3 and R⁴ means hydrogen, branched and unbranched C₁-C₆ alkyl, chlorine, bromine, fluorine, nitro, cyano, NR⁴¹R⁴², NH-CO-R⁴³, OR⁴¹; as inhibitors of the enzyme poly(ADP-ribose)-polymerase for producing medicaments.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole der allgemeinen Formel (I), worin A N oder CH bedeutet, R¹ Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR¹¹ oder eine Gruppe R⁵ tragen kann; R² Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Nitro, CF₃, CN, NR²¹R²², NH-CO-R²³, OR²¹; R³ -(CH₂)_q-NR³¹R³² bedeutet, wobei q 0, 1, 2 oder 3 sein kann; R⁴ Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Chlor, Brom, Fluor, Nitro, Cyano, NR⁴¹R⁴², NH-CO-R⁴³, OR⁴¹, als Inhibitoren des Enzyms Poly(ADP-ribose)-polymerase zur Herstellung von Arzneimitteln.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbajdschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LJ	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole, deren Herstellung und Anwendung

5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft neuartige 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole, ihre Herstellung und die Verwendung als Inhibitoren des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 10 2.4.2.30) zur Herstellung von Arzneimitteln.

Poly(ADP-ribose)polymerase (PARP) bzw. wie es auch genannt wird Poly(ADP-ribose)synthase (PARS) stellt ein regulatorisches Enzym dar, das in Zellkernen gefunden wird (K. Ikai et al., *J.Histochem. Cytochem.* **1983**, 31, 1261-1264). Man nimmt an, daß PARP eine 15 Rolle bei der Reparatur von DNA-Brüchen spielt (M.S. Satoh et al., *Nature* **1992**, 356, 356-358). Schädigungen oder Brüche der DNA-Stränge aktivieren das Enzym PARP, das, wenn es aktiviert ist, die Übertragung von ADP-Ribose aus NAD katalysiert (S. Shaw, 20 *Adv.Radiat.Biol.*, **1984**, 11, 1-69). Dabei wird Nikotinamid aus NAD freigesetzt. Nikotinamid wird unter Verbrauch des Energieträgers ATP von anderen Enzymen wieder in NAD umgewandelt. Eine Überaktivierung von PARP hätte dementsprechend einen unphysiologisch hohen Verbrauch von ATP zur Folge und dies führt im Extremfall zu 25 Zellschädigungen und Zelltod.

Es ist bekannt, daß Radikale wie Superoxid-Anion, NO und Wasserstoffperoxid in Zellen zu DNA-Schädigungen führen können und damit PARP aktivieren. Die Bildung von großen Mengen an Radikalen 30 wird bei eine Reihe von pathophysiologischen Zuständen beobachtet und man geht davon aus, daß diese Anhäufung von Radikalen zu den beobachteten Zell- bzw Organschäden führen oder beitragen. Dazu zählt von zum Beispiel ischämische Zustände von Organen wie im Schlaganfall, Herzinfarkt (C. Thiernemann et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, **1997**, 94, 679-683) oder Ischämie der Nieren, aber 35 auch Reperfusionsschäden wie sie zum Beispiel nach der Lyse von Herzinfarkt auftreten (s. oben : C. Thiernemann et al.). Die Hemmung von dem Enzym PARP könnte demzufolge ein Mittel sein, um diese Schäden zum mindestens zum Teil zu verhindern oder abzumildern. 40 PARP-Inhibitoren könnten somit ein neues Therapieprinzip zur Behandlung von eine Reihe von Krankheiten darstellen.

Das Enzym PARP beeinflusst die Reparatur von DNA-Schäden und könnte somit auch in der Therapie von Krebs-Erkrankungen eine 45 Rolle spielen, da in Kombination mit cytostatisch wirksamen Stoffen ein höheres Wirkpotential gegenüber Tumorgewebe beobachtet wurde (G. Chen et al. *Cancer Chemo.Pharmacol.* **1988**, 22, 303) .

Nicht limitierende Beispiele für Tumoren sind Leukämie, Glioblastome, Lymphome, Melanome, Mama- und Zervikalkarzinome.

Zudem wurde gefunden, daß PARP-Inhibitoren immunsuppressive Wirkung zeigen können (D. Weltin et al. *Int.J.Immunopharmacol.* **1995**, **17**, 265-271).

Es wurde ebenfalls entdeckt, daß PARP bei immunologischen Erkrankungen bzw. Krankheiten, in denen das Immunsystem eine wichtige Rolle spielt, wie zum Beispiel rheumatoide Arthritis und septischer Schock, involviert ist, und daß PARP-Inhibitoren einen günstigen Effekt auf den Krankheitsverlauf zeigen können (H. Kröger et al. *Infammation* **1996**, **20**, 203-215; W.Ehrlich et al. *Rheumatol. Int.* **1995**, **15**, 171-172; C.Szabo et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* **1998**, **95**, 3867-3872; S. Cuzzocrea et al. *Eur.J.Pharmacol.* **1998**, **342**, 67-76).

Unter PARP im Sinne dieser Erfindung werden auch Isoenzyme des oben beschriebenen PARP-Enzyms verstanden.

20

Weiterhin zeigte der PARP-Inhibitor 3-Aminobenzamid protektive Effekte in einem Model für den Kreislaufschock (S. Cuzzocrea et al., *Br.J.Pharmacol.* **1997**, **121**, 1065-1074).

25 Ebenfalls gibt es experimentelle Hinweise, daß Inhibitoren des Enzymes PARP als Mittel zur Behandlung von Diabetes mellitus nützlich sein könnten (V. Burkart et al. *Nature Med.* **1999**, **5**, 314-319).

30 2-Phenylbenzimidazole sind vielfach beschrieben worden. So sind in DE 38 30 060 alkylierte Derivate als Inhibitoren der Erythrozytenaggregation offengelegt. In DE 35 22 230 ist ein Ester-Derivat vom 2-Phenylbenzimidazol als Inhibitor der Plättchenaggregation aufgeführt. Halogen-substituierte 2-Phenylbenzimidazole, die am Phenyl-Ring substituierte Amin-Reste tragen, sind in WO 35 98/06703 als MCP-1-Antagonisten beschrieben worden.

Ebenfalls sind 2-Phenyl-benzimidazole bekannt, bei denen die Benzimidazol-Gruppe durch eine Amid-Gruppe substituiert ist.

40 5-Amido-Derivate des 2-Phenylbenzimidazols, die am Phenyl-Ring Alkyloxy-Reste tragen, sind in WO 94/12461 als Inhibitoren der cAMP-Phosphodiesterase beschrieben worden. Für analoge Derivate wurde in DE 35 46 575 (z.B. Beispiel 15) gefunden, daß diese Verbindungen positiv inotrope Effekte auslösen. Ebenfalls

45 4-Amido-Derivate, die in 3-Stellung ein Pyridyl-Rest tragen, sind

in WO 97/48697 als Inhibitoren der cAMP-Phosphodiesterase aufgeführt.

Die Synthese von 2-Phenyl-benzimidazol-4-amiden ist in
5 J.Chem.Soc. Perkin Trans 1, 1979, 2303-2307 beschrieben worden.
Analoge Verbindungen, die am Amid-Rest noch eine substituierte
Alkyl-Kette tragen, und die cytotoxische Wirkung haben sollen,
sind in J.Med.Chem. 1990, 33, 814-819 aufgeführt. In WO 97/04771
sind dagegen Benzimidazol-4-amide aufgeführt, die das PARS hem-
10 men. Insbesondere sind Derivate dort als wirksam beschrieben,
die einen Phenyl-Ring in 2-Stellung tragen, wobei der Phenyl-Ring
noch mit einfachen Substituenten wie Nitro, Methoxy und CF₃, sub-
stituiert sein kann. Obwohl diese Substanzen zum Teil gute Hem-
mung des Enzyms PARP zeigen, haben die dort beschriebenen Derivate
15 als Nachteil, daß sie nur wenig oder keine Löslichkeit in
wäßrigen Lösungen zeigen und somit nicht als wäßrige Lösung ap-
pliziert werden können.

In einer Reihe von Therapien wie Schlaganfall werden die Wirk-
20 stoffe intravenös als Infusionslösung appliziert. Dazu ist es
notwendig Substanzen, hier PARP-Inhibitoren, zur Verfügung zu ha-
ben, die ausreichende Wasserlöslichkeit bei physiologischen pH-
Werten oder angenäherten pH-Werten (z.B: pH-Werten von 5-8) auf-
weisen, so daß eine Infusionslösung hergestellt werden kann.
25 Viele der beschriebenen PARP-Inhibitoren, insbesondere die besser
wirksamen PARP-Inhibitoren, haben jedoch den Nachteil, daß sie
nur geringe oder keine Wasserlöslichkeit bei diesen pH-Werten
zeigen und somit nicht für eine intravenöse Applikation in Frage
kommen. Derartige Wirkstoffe können nur mit Hilfsstoffen, die die
30 Wasserlöslichkeit vermitteln sollen, appliziert werden (vgl WO
97/04771). Diese Hilfsstoffe, zum Beispiel Polyethylenglykol und
Dimethylsulfoxid, verursachen häufig Nebeneffekte oder sind sogar
unverträglich. Gut wirksame PARP-Inhibitoren mit ausreichender
Wasserlöslichkeit sind bisher nicht beschrieben worden.

35

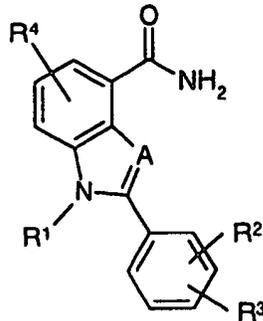
Es wurde überraschender Weise gefunden, daß 2-Phenyl-benzimida-
zole, die am Phenyl-Ring noch einen Amin-Rest tragen, gut wirk-
same Inhibitoren darstellen, die aber durch den Einbau des ali-
phatischen Amin-Restes eine Salzbildung mit Säuren ermöglichen
40 und dadurch eine deutlich verbesserte Wasserlöslichkeit zeigen.

In der vorliegenden Erfindung werden neue 2-Phenylbenzimidazol-
und 2-Phenylindol-Derivate der allgemeinen Formel I beschrieben,
die gegenüber den bereits beschriebenen Verbindungen Vorteile
45 zeigen und potente PARP-Inhibitoren darstellen und zugleich auch

ausreichende Wasserlöslichkeit zeigen, die eine Applikation als Infusionlösung ermöglicht.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind substituierte 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole der allgemeinen Formel I:

10



I

15

worin

A N oder CH bedeutet,

20 R¹

Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR¹¹ oder eine Gruppe R⁵ tragen kann, wobei

R¹¹

Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeutet, und

25

R²

Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Nitro, CF₃, CN, NR²¹R²², NH-CO-R²³, OR²¹, wobei

30 R²¹ und R²²

unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeuten und

R²³

Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

35 R³

-(CH₂)_q-NR³¹R³², (CH₂)_q-NR³³R³⁴ bedeutet, wobei q 0, 1, 2 oder 3 sein kann,

R³¹

bedeutet Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, (CH₂)_rNR³³R³⁴

40 R₃₂

bedeutet (CH₂)_rNR³³R³⁴,

45

worin bei R³¹ und R³² unabhängig voneinander r 2, 3, 4, 5 oder 6 bedeutet und R³³ und R³⁴ unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, zusammen mit dem Stickstoff gleich einem Ring 3 bis 8 Atomen, der ein zusätzliches Heteroatom ausgewählt aus O, N-C₁-C₄-Alkyl, N-C₀-C₂-Phenyl oder NH tragen kann,

5 Phenyl-C₁-C₄-Alkyl, wobei der Phenylring mit bis zu 3 gleichen oder verschiedenen Substituenten ausgewählt aus der Gruppe C₁-C₆-Alkyl, Halogen, Nitro, SO₂NR³⁵R³⁶ (mit R³⁵, R³⁶ unabhängig voneinander gleich Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder zusammen mit dem Stickstoff gleich einem Ring 3 bis 8 Atomen, der ein zusätzliches Heteroatom ausgewählt aus O, S, SO₂, N-C₁-C₄-Alkyl, N-C₀-C₂-Phenyl oder NH tragen kann), C₁-C₄-Alkoxy, S(O)₀₋₂-R³⁷ (mit R³⁷ gleich Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl). CF₃, (CH₂)₀₋₄-COR³⁷, (CH₂)₀₋₄NR³⁵R³⁶, (CH₂)₀₋₄CONR³⁵R³⁶, (CH₂)₀₋₄OR³⁷-CH₂COOR³⁷,

15 R⁴ Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Chlor, Brom Fluor, Nitro, Cyano, NR⁴¹R⁴², NH-CO-R⁴³, OR⁴¹, wobei

R⁴¹ und R⁴² unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeuten und

20 R⁴³ C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

25 Bevorzugte Positionen für den Rest R² in der allgemeinen Formel I sind die 3-Position und die 4-Position zum Benzimidazolring. Für den Rest R³ ist ebenfalls die 3-Position oder 4-Position zum Benzimidazolring bevorzugt.

Die bevorzugte Bedeutung von A ist Stickstoff.

30 Die bevorzugte Bedeutung von R¹ ist Wasserstoff.

Die bevorzugte Bedeutung von R² ist Wasserstoff, verzweigtes oder unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Nitro, CN, NH₂, O-C₁-C₄-Alkyl. Besonders bevorzugt ist R² gleich Wasserstoff.

35 Die bevorzugte Bedeutung für R³ ist (CH₂)_{1,2}NR³⁵R³⁶ und N(R³⁷)-(CH₂)₂₋₃NR³⁵R³⁶, worin R³⁷ Wasserstoff und C₁-C₄-Alkyl sein kann, R³⁵ und R³⁶ unabhängig voneinander Wasserstoff und C₁-C₄-Alkyl und zusammen als NR³⁵R³⁶ auch cyclische aliphatische Amine wie Piperidin, Pyrrolidin, Azepin und Piperazin sein können, wobei das Piperazin am zweiten N-Atom noch mit Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl substituiert sein kann.

Die bevorzugte Bedeutung von R⁴ ist Wasserstoff.

45 Ganz besonders bevorzugt sind die jeweiligen Kombinationen der obigen bevorzugten Bedeutungen.

Die Verbindungen der Formel I können als Racemate, als enantio-
merenreine Verbindungen oder als Diastereomere eingesetzt werden.
Werden enantiomerereine Verbindungen gewünscht, kann man diese
beispielweise dadurch erhalten, daß man mit einer geeigneten op-
5 tisch aktiven Base oder Säure eine klassische Racematspaltung mit
den Verbindungen der Formel I oder ihren Zwischenprodukten durch-
führt.

Gegenstand der Erfindung sind auch zu Verbindungen der Formel I
10 mesomere oder tautomere Verbindungen.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind die physiologisch ver-
träglichen Salze der Verbindungen I, die sich durch Umsatz von
Verbindungen I mit einer geeigneten Säure oder Base erhalten las-
15 sen. Geeignete Säuren und Basen sind zum Beispiel in Fortschritte
der Arzneimittelforschung, 1966, Birkhäuser Verlag, Bd.10, S.
224-285, aufgelistet. Dazu zählen zum Beispiel Salzsäure,
Citronensäure, Weinsäure, Milchsäure, Phosphorsäure, Methan-
sulfonsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Maleinsäure, Fumarsäure
20 usw. bzw. Natriumhydroxid, Lithiumhydroxid, Kaliumhydroxid und
Tris.

Unter Prodrugs werden solche Verbindungen verstanden, die in vivo
in Verbindungen der allgemeinen Formel I metabolisiert werden.
25 Typische Prodrugs sind Phosphate, Carbamate von Aminosäuren,
Ester und andere.

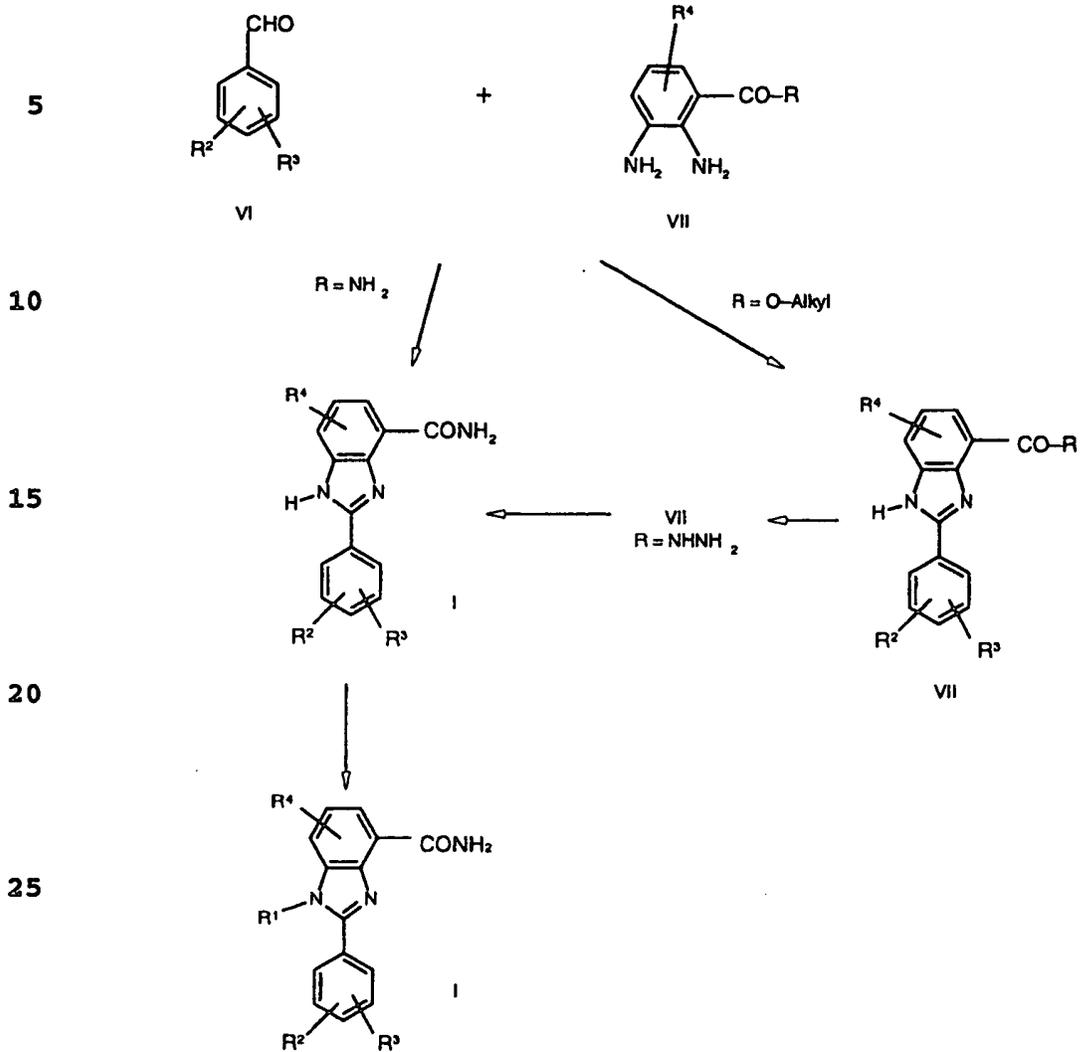
Die Herstellung der erfindungsgemäßen Substanzen I kann auf ver-
schiedenen Wegen erfolgen, die analog denen sind, die in WO
30 98/06703 für Benzimidazol und Indol gezeigt wurden, und den Syn-
theseschemata 1-3 skizziert wurden.

35

40

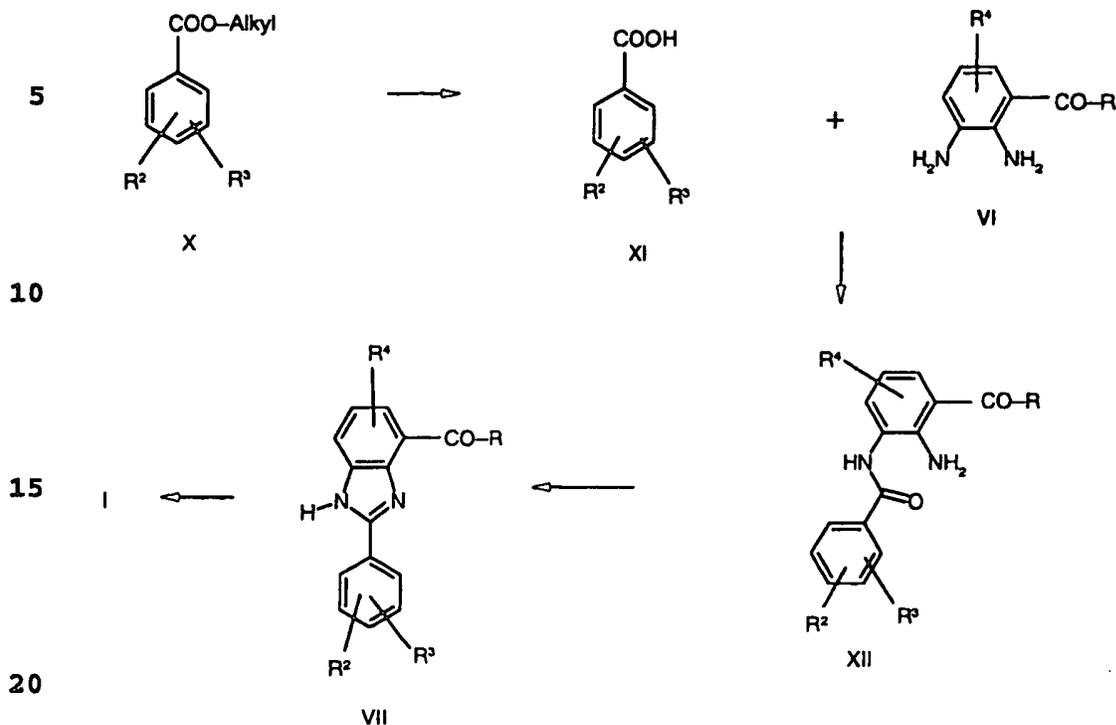
45

Syntheschema 1



30 Durch Kondensation des Benzaldehyds mit Phenyldiaminen erhält man das Benzimidazol VII, wobei man bevorzugt in polaren Lösungsmitteln wie Ethanol oder Dimethylformamid und Zusatz von Säuren wie Essigsäure bei erhöhter Temperatur arbeitet, in der Regel 80-120°C. Günstig für die Reaktion ist der Zusatz von schwachen Oxidationsmitteln wie Kupfer-II-Salzen, die als wässrige Lösung zugesetzt werden.

Syntheschema 2



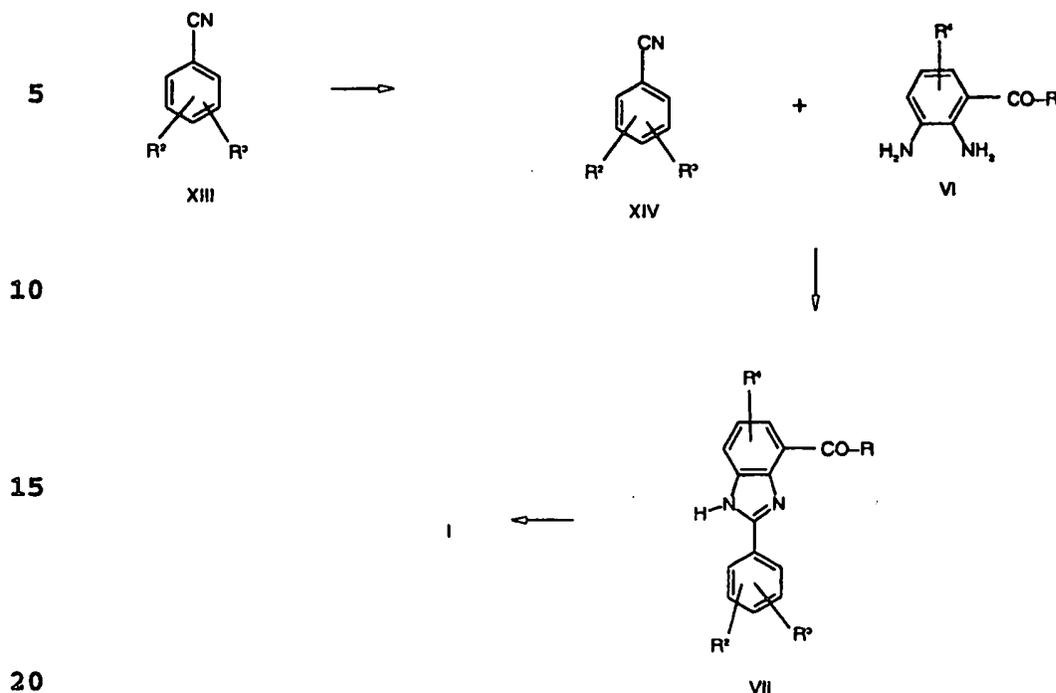
Wenn in dem Phenylendiamin VIII R = NH₂ ist, entstehen bei der Kondensation direkt erfindungsgemäße Verbindungen I. Ansonsten kann man, falls R = O-Alkyl ist, diesen Ester mit Ammoniak, bei gegebenenfalls erhöhter Temperatur und erhöhtem Druck, zum Amid I umsetzen. Alternativ kann man den Ester VIII mit Hydrazin in polaren Lösungsmitteln wie die Alkohole Butanol und Ethanol oder auch Dimethylformamid, bei erhöhten Temperaturen, vorzugsweise 80-130°C, umsetzen, wobei ein Hydrazid VIII (R = NHNH₂) anfällt, das danach noch unter reduktiven Bedingungen, wie mit Raney-Nickel in Alkoholen unter Rückfluß, zum Amid I reduziert werden kann.

Eine Einführung des Restes R₁ am Benzimidazol-Rest in I (R₁ = H) gelingt unter Alkylierungsbedingungen wie oben (siehe V -VI), wobei allerdings der Reaktionspartner R₁-L (L = Abgangsgruppe wie oben) eingesetzt werden muß (siehe Schema 1).

40

45

Synthesschema 3



Alternativ zuden im Schema 1 gezeigten Benzaldehyden VI kann man auch Benzoesäuren wie XI (siehe Schema 2) oder Benzonitrile wie XIV (siehe Schema 3) anstelle des Benzaldehyds einsetzen. Die Herstellung dieser Derivate erfolgt analog zur Herstellung der substituierten Benzaldehyde VI. Ausgehend von XI erfolgt die Kondensation zu VII in zwei Stufen. Zuerst wird die Benzoesäure XI mit dem Anilin VI in einer peptidartigen Kupplung zum Amid XII umgesetzt. Dabei arbeitet man nach üblichen Bedingungen, die zum Beispiel im Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4. Aufl., E5, Kap. V bzw. C.R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publisher, 1989, Seite 972f. aufgelistet sind. Der Ringschluß erfolgt zum Benzimidazol erfolgt danach bei erhöhter Temperatur, zum Beispiel 60-180°C, mit oder ohne Lösungsmitteln wie Dimethylformamid, unter Zusatz von Säuren wie Essigsäure oder direkt in Essigsäure selbst.

Die Reaktion des Phenylendiamins VI mit einem Benzonitril XIV erfolgt ebenfalls unter üblichen Bedingungen. Dabei kann man in Lösungsmitteln wie Dimethylformamid unter Zusatz von Säuren oder auch in Polyphosphorsäure bei erhöhter Temperatur wie 60-200°C arbeiten. Allerdings kann man auch die üblichen Methoden zur Herstellung von Amidinen aus Benzonitrilen anwenden, wie sie in Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, E5, S. 1304 f., J. Amer. Chem. Soc. 1957, 427 und J. Org. Chem. 1987, 1017 beschrieben sind.]

Die in der vorliegenden Erfindung enthaltenen substituierten 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I stellen Inhibitoren des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 2.4.2.30) dar.

5

Die inhibitorische Wirkung der substituierten 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I wurde mit einem in der Literatur bereits bekannten Enzymtest ermittelt, wobei als Wirkmaßstab ein K_i -Wert ermittelt wurde. Die 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I wurden in dieser Weise auf Hemmwirkung des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 2.4.2.30) gemessen.

Die substituierten 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole der allgemeinen Formeln I stellen Inhibitoren der Poly(ADP-ribose)polymerase (PARP) bzw. wie es auch genannt wird Poly(ADP-ribose)synthase (PARS) dar und können somit zur Behandlung und Prophylaxe von Krankheiten, die mit einer erhöhten Enzymaktivität dieser Enzyme verbunden sind, dienen.

20 Die Verbindungen der Formeln I können zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen nach Ischämien und zur Prophylaxe bei erwarteten Ischämien verschiedener Organe eingesetzt werden.

25 Die vorliegenden 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole der allgemeinen Formel I können danach zur Behandlung und Prophylaxe von neurodegenerativen Krankheiten, die nach Ischämie, Trauma (Schädel-Hirntrauma), Massenblutungen, Subarachnoidal-Blutungen und Stroke auftreten, und von neurodegenerativen Krankheiten wie 30 multipler Infarkt-Dementia, Alzheimer Krankheit, Huntington Krankheit und von Epilepsien, insbesondere von generalisierten epileptischen Anfällen, wie zum Beispiel Petit mal und tonisch-clonische Anfälle und partiell epileptischen Anfällen, wie Temporal Lope, und komplex-partiellen Anfällen, und weiterhin zur Behandlung und Prophylaxe von Schädigungen des Herzens nach 35 kardialen Ischämien und Schädigungen der Nieren nach renalen Ischämien, zum Beispiel der akuten Niereninsuffizienz, des akuten Nierenversagens oder von Schädigungen, die während und nach einer Nierentransplantation auftreten, dienen. Weiterhin können die 40 Verbindungen der allgemeinen Formel I zur Behandlung des akuten Myocardinfarkts und Schädigungen, die während und nach dessen medikamentöser Lyse auftreten (zum Beispiel mit TPA, Reteplase, Streptokinase oder mechanisch mit einem Laser oder Rotablator) und von Mikroinfarkten während und nach Herzklappenersatz, Aneurysmenresektionen und Herztransplantationen dienen. Ebenfalls 45 können die vorliegenden 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I zur Behandlung einer Revascularisation kritisch verengter Koro-

nararterien, zum Beispiel bei der PCTA und Bypass-Operationen, und kritisch verengter peripherer Arterien, zum Beispiel Beinarterien, dienen. Zudem können die 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I bei der Chemotherapie von Tumoren und deren Metastasierung
5 nützlich sein und zur Behandlung von Entzündungen und rheumatischen Erkrankungen, wie z.B. rheumatischer Arthritis dienen.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen enthalten neben den üblichen Arzneimittel-hilfstoffen eine therapeutisch wirksame
10 Menge der Verbindungen I.

Für die lokale äußere Anwendung, zum Beispiel in Puder, Salben oder Sprays, können die Wirkstoffe in den üblichen Konzentrationen enthalten sein. In der Regel sind die Wirkstoffe in
15 einer Menge von 0,001 bis 1 Gew.-%, vorzugsweise 0,001 bis 0,1 Gew.-% enthalten.

Bei der inneren Anwendung werden die Präparationen in Einzeldosen verabreicht. In einer Einzeldosis werden pro kg Körpergewicht 0,1
20 bis 100 mg gegeben. Die Zubereitung können täglich in einer oder mehreren Dosierungen je nach Art und Schwere der Erkrankungen verabreicht werden.

Entsprechend der gewünschten Applikationsart enthalten die
25 erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen neben dem Wirkstoff die üblichen Trägerstoffe und Verdünnungsmittel. Für die lokale äußere Anwendung können pharmazeutisch-technische Hilfsstoffe, wie Ethanol, Isopropanol, oxethyliertes Ricinusöl, oxethyliertes Hydriertes Ricinusöl, Polyacrylsäure, Polyethylenglykol, Poly-
30 ethylenglykostearyl, ethoxylierte Fettalkohole, Paraffinöl, Vaseline und Wollfett, verwendet werden. Für die innere Anwendung eignen sich zum Beispiel Milchzucker, Propylenglykol, Ethanol, Stärke, Talk und Polyvinylpyrrolidon.

35 Ferner können Antioxidationsmittel wie Tocopherol und butyliertes Hydroxyanisol sowie butyliertes Hydroxytoluol, geschmacksverbessernde Zusatzstoffe, Stabilisierungs-, Emulgier- und Gleitmittel enthalten sein.

40 Die neben dem Wirkstoff in der Zubereitung enthaltenen Stoffe sowie die bei der Herstellung der pharmazeutischen Zubereitungen verwendeten Stoffe sind toxikologisch unbedenklich und mit dem jeweiligen Wirkstoff verträglich. Die Herstellung der Arzneimittelzubereitungen erfolgt in üblicher Weise, zum Beispiel durch
45 Vermischung des Wirkstoffes mit anderen üblichen Trägerstoffen und Verdünnungsmitteln.

Die Arzneimittelzubereitungen können in verschiedenen Applikationsweisen verabreicht werden, zum Beispiel peroral, parenteral wie intravenös durch Infusion, subkutan, intraperitoneal und topisch. So sind Zubereitungsformen wie Tabletten, Emulsionen, Infusions- und Injektionslösungen, Pasten, Salben, Gele, Cremes, Lotionen, Puder und Sprays möglich.

Beispiel 1

2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid

a) 2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureethylester

2,0 g (12 mMol) 2,3-Diaminobenzoesäureethylester wurden in 100 ml Methanol gelöst und mit 1,7 ml (27,7 mMol) Essigsäure versetzt. Anschließend wurden 2,4 g (10,1 mMol) 4(2(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)benzaldehyd, gelöst in 100 ml Methanol, innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Man tropfte eine Lösung von 1,7 g (8,5 mMol) Kupfer-II-acetat in 30 ml Wasser zu und erwärmt danach alles für 50 Minuten unter Rückfluß. Man ließ die Reaktionslösung auf 50°C abkühlen und gab vorsichtig 20 ml 32%ige Salzsäure zu. Dann wurde noch eine Lösung aus 3,9 g (16,2 mMol) Natriumsulfid-Hydrat in 20 ml Wasser zugetropft und alles für 10 Minuten gerührt. Der Niederschlag wurde abgesaugt und das Filtrat durch Zugabe von wäßriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung alkalisiert. Diese wäßrige Phase wurde mit Essigester extrahiert, die organische Phase abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 2,6 g des Produktes.

b) 2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäurehydrazid

2,6 g (6,8 mMol) des Zwischenproduktes 1 und 3,4 g (68,3 mMol) hydrazinhydrat wurden in 70 ml n-Butanol gegeben und für 12 Stunden auf 120°C erwärmt. Danach wurde das Butanol im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 1,1 g des Produktes.

- c) 2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

5 Zu 1,1 g (2,9 mMol) des Zwischenproduktes 1b in 30 ml Dimethylformamid wurden 1 g Raney-Nickel gegeben und alles für 8 Stunden auf 120°C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat im Vakuum eingeeengt. Der erhaltene Rückstand wurde zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Man erhielt 0,9 g des Produktes.

10 $^1\text{H-NMR}(\text{D}_6\text{-DMSO})$: $\delta = 2,2$ (6H), 2,4 (2H), 3,0 (3H), 3,5 (2H), 6,8 (2H), 7,2 (1H), 7,6-7,8 (3H), 8,1 (2H), 9,5 (1H) und 13,2 (1H) ppm.

15 Beispiel 2

2(4-(N,N-2-(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid

Die Verbindung wurde analog zu den Vorschriften im Beispiel 1
20 hergestellt.

$^1\text{H-NMR}(\text{D}_6\text{-DMSO})$: $\delta = 2,2$ (6H), 2,55 (2H), 3,1 (2H), 7,4 (1H), 7,8 (2H), 7,9 (1H), 8,1 (1H), 8,3 (1H), 8,4 (1H), 9,2 (1H) ppm.

Beispiel 3

25 2(3(2(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl)-4-nitrophenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid

- a) 3(E-2-N,N-Dimethylamino-ethen-1-yl)-4-nitro-benzoesäuremethylester

30

10 g (47,8 mMol) 3-Methyl-4-nitrobenzoesäureethylester und 30 ml N,N-Dimethylformamid dimethyl-acetal wurden in 100 ml Dimethylformamid für 8 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde der Ansatz im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde in 100 ml Toluol gelöst und durch Zugabe von Petrolether wurde das Produkt ausgefällt. Man erhielt 7,5 g
35 des Produktes.

- b) 3(2-N,N-Dimethylamino-eth-1-yl)-4-nitrobenzylalkohol

40

Zu 7 g (26,5 mMol) des Zwischenproduktes 3a in 70 ml Ethanol wurden 2,0 g (53 mMol) Natriumborhydrid portionsweise zugegeben. Anschließend wurde alles für 30 Minuten unter Rückfluß erwärmt. Die Reaktionslösung wurde dann im Vakuum eingeeengt.
45 Der erhaltene Rückstand wurde zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase abgetrennt, mit Wasser und mit wäßriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen, getrocknet und im

Vakuum eingeengt. Das so erhaltene Öl wurde in Ethanol gelöst und mit etherische Chlorwasserstoff-Lösung versetzt. Das Produkt kristallisierte als Hydrochlorid aus. Man erhielt 2,5 g.

5

c) 3(2-N,N-Dimethylamino-eth-1-yl)-4-nitrobenzaldehyd

2,35 g (9 mMol) des Zwischenproduktes 3b und 6,3 ml (45 mMol) Triethylamin wurden in 50 ml Dimethylsulfoxid gelöst. Danach gab man 2,9 g (18 mMol) des Pyridin-Schwefeltrioxid-Adduktes portionsweise zu und rührte alles für 60 Minuten. Danach wurde der Ansatz im Vakuum eingeengt und der Rückstand zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase wurde noch zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 1,8 g des Produktes.

15

d) 2(3(2(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl)-4-nitrophenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid

20

Das Zwischenprodukt 51c wurde analog der Vorschriften aus Beispiel 29a,b und c zum Produkt umgesetzt.

$^1\text{H-NMR}(\text{D}_6\text{-DMSO})$: $\delta = 1,25$ (6H), 3,1 (3H), 3,2 (4H), 3,9 (2H), 7,0 (2H), 7,2 (1H), 7,6-7,9 (3H), 8,1 (2H), 9,5 (1H), 10,9 (1H) und 13,5 (breit) ppm.

25

Analog der Methoden, die in WO 98/06703 beschrieben wurden oder der Methoden in der vorliegenden Anmeldung beschrieben sind, können folgende Beispiele hergestellt werden:

30

1. 2(4-(Diethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

2. 2(4-(Dimethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

35

3. 2(4-(Pyrrolidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

40

4. 2(4-(Piperidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

5. 2(4-Aminomethyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

6. 2(4-(Methylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

45

7. 2(4-(Propylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

7. 2(4-(Propylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
8. 2(4(2(Diethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 5 9. 2(4(2(Dimethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 10 10. 2(4(2-Aminoeth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
11. 2(4(2(Methylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 15 12. 2(4(2(Ethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
13. 2(4(2(Pyrrolidin-1-yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 20 14. 2(4(2(Piperidin-1-yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 15 15. 2(3-(Diethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 25 16. 2(3-(Dimethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 30 17. 2(3-(Pyrrolidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
18. 2(3-(Piperidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 35 19. 2(3-Aminomethyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
20. 2(3-(Methylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 40 21. 2(3-(n-Propylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
22. 2(3(2(Diethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 45 23. 2(3(2(Dimethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

24. 2(3(2-Aminoeth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
25. 2(3(2(N-Methylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 5
26. 2(3(2(N-Ethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
27. 2(3(2(Pyrrolidin-1-yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 10
28. 2(3(2(Piperidin-1-yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 15
29. 2(4-N,N-(2-Aminoeth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
30. 2(4-N-(2(Diethylamino)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 20
31. 2(4-N-(2(Dimethylamino)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
32. 2(4-N-(2-Aminoeth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 25
33. 2(3-N,N-(2(Dimethylamino)eth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 30
34. 2(3-N,N-(2-Aminoeth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
35. 2(3-N-(2(Diethylamino)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 35
36. 2(3-N-(2(Dimethylamino)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
37. 2(3-N-(2-Aminoeth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 40
38. 2(3-N,N-(3(Diethylamino)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 45
39. 2(3-N,N-(3(Dimethylamino)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

40. 2(3-N,N-(3-Aminoprop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
41. 2(3-N-(3(Diethylamino)prop-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
42. 2(3-N-(3(Dimethylamino)prop-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
43. 2(3-N-(3-Aminoprop-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
44. 2(3-N,N-(2-Pyrrolidion-1-yl-eth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
45. 2(3-N-(2(Pyrrolidion-1-yl)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
46. 2(3-N,N-(3(Pyrrolidin-1-yl)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
47. 2(3-N,N-(3(Piperidin-1-yl)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
48. 2(3-N,N-(2(Piperidin-1-yl)eth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

Beispiel A: Hemmung des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 2.4.2.30)

- Eine 96well Mikrotiterplatte (Falcon) wird mit Histonen (Type II-AS; SIGMA H7755) beschichtet. Histone werden dazu in Carbonat-Puffer (0,05 M NaHCO₃; pH 9,4) zu einer Konzentration von 50 µg/ml gelöst. Die einzelnen Wells der Mikrotiterplatte werden über Nacht mit je 100 µl dieser Histon Lösung inkubiert. Anschließend wird die Histon Lösung entfernt und die einzelnen Wells mit 200 µl einer 1%igen BSA (Bovine Serum Albumine) Lösung in Carbonat-Puffer für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wird dreimal mit Waschpuffer (0,05 % Tween10 in PBS) gewaschen. Für die Enzymreaktion werden je Well 50 µl der Enzymreaktionslösung (5µl Reaktions-Puffer (1M Tris-HCl pH 8,0, 100 mM MgCl₂, 10 mM DTT,) 0,5 µl PARP (c = 0,22 µg/µl), 4 µl aktivierte DNA (SIGMA D-4522, 1mg/ml in Wasser), 40,5 µl H₂O) mit 10 µl einer Inhibitorlösung für 10 Minuten vorinkubiert. Die Enzymreaktion wird durch Zugabe von 40 µl einer Substratlösung (4 µl Reaktions-Puffer (s.o.), 8 µl NAD-Lösung (100 µM in H₂O), 28 µl H₂O) gestartet. Reaktionszeit ist 20 Minuten bei Raumtemperatur. Die

- Reaktion wird durch dreimaliges Waschen mit Waschpuffer (s.o.) gestoppt. Anschließend folgt eine einstündige Inkubation bei Raumtemperatur mit einem spezifischen Anti-Poly-ADP-Ribose Antikörper inkubiert. Als Antikörper wurden ein monoklonaler anti-
5 Poly-(ADP-ribose) Antikörpern "10H" (Kawamitsu H et al. (1984) Monoclonal antibodies to poly (adenosine diphosphate ribose) recognize different structures. Biochemistry 23, 3771-3777) verwendet. Polyklonale Antikörper können ebenso verwendet werden.
- 10 Die Antikörper wurden in einer 1:5000 Verdünnung in Antikörper-Puffer (1%BSA in PBS; 0,05 % Tween20) eingesetzt. Nach dreimaligem Waschen mit Waschpuffer folgt eine einstündige Inkubation bei Raumtemperatur mit dem sekundärem Antikörper. Hier wurden für den monoklonalen Antikörper ein anti-Maus-IgG gekoppelt mit
15 Peroxidase (Boehringer Mannheim) und für den Kaninchen Antikörper ein anti-Rabbit-IgG gekoppelt mit Peroxidase (SIGMA A-6154) jeweils in einer 1:10000 Verdünnung in Antikörperpuffer verwendet. Nach dreimaligem Waschen mit Waschpuffer erfolgt die Farbreaktion unter Verwendung von 100 µl/Well Farbreaenz (SIGMA,
20 TMB-Fertigmix, T8540) für ca. 15 min. bei Raumtemperatur. Die Farbreaktion wird durch Zugabe von 100 µl 2M H₂SO₄ gestoppt. Danach wird sofort gemessen (450 nm gegen 620 nm; ELISA Platten Lesegerät "Easy Reader" EAR340AT, SLT-Labinstruments, Österreich). Der IC₅₀-Wert eines zu messenden Inhibitors liegt bei der
25 Inhibitorkonzentration, wo eine halbmaximale Farbkonzentrationsänderung auftritt. Der K_i-Wert entspricht der Inhibitionskonstante. Folgende K_i-Werte wurden bestimmt:
- Beispiel 1: 16 nM
30 Beispiel 2: 10 nM
Beispiel 3: 4 nM
- Beispiel B: Bestimmung des Wasserlöslichkeit
- 35 Eine zu messende Verbindung wird direkt in einem festgelegten Volumen Wasser gelöst und die entstandene Lösung mit einer Natriumacetat-Lösung auf pH 5 bis 6 eingestellt, so daß die zu prüfende Konzentration des Wirkstoffs erreicht wird. Fall die Meßsubstanz nicht als wasserlösliches Salz vorliegt, wurde diese
40 in möglichst wenig Dimethylsulfoxid gelöst und anschließend mit Wasser verdünnt (Endkonzentration an Dimethylsulfoxid ≤ 1 %), wonach auch hier der pH-Wert noch eingestellt wurde. Der potente PARP-Inhibitor NU 1076 (WO 97/04771) zeigte hier eine Löslichkeit
45 keit > 0,5 % aufweist.

Beispiel C: Test von PARP-Inhibitoren in einem zellulären Assay

Zum Test der Wirkung von PARP-Inhibitoren werden eukaryontische Zelllinien mit Chemikalien so behandelt, daß die DNA der Zelllinie
5 geschädigt und dadurch das in den Zellen vorhandene PARP-Enzym aktiviert wird. Durch die Aktivierung des Enzym werden Ketten von poly-ADP-Ribose (PAR) auf Proteinen gebildet. Diese Ketten werden von einem spezifischen Antikörper gebunden. Dieser wird wiederum von einem zweiten Antikörper gebunden, der mit einer
10 fluoreszenten Markierung versehen ist. Die Fluoreszenz wird mit einem Fluoreszenzscanner gemessen und verhält sich zur Aktivität des Enzyms PARP proportional. PARP-Inhibitoren lassen sich an einer Abschwächung des Fluoreszenzsignals erkennen. Um Verfälschungen der Ergebnisse durch unterschiedliche Zellzahlen zu
15 verhindern, wird die DNA der Zellen mit einem weiteren Farbstoff markiert und dessen Fluoreszenz ebenfalls im Fluoreszenzscanner bestimmt.

400000 Zellen der humanen Zelllinie C4I werden in Zellkultur-
20 platten mit 24 Kavitäten in RPMI-Medium mit 10% fötalen Rinderserum bei 37°C, 5 % CO₂ bis zum Erreichen eines dichten Zellrasens bebrütet. Die Zellen werden mit DMEM gewaschen und die zu testenden PARP-Inhibitoren in verschiedenen Konzentrationen in DMEM zugegeben. Nach einer Inkubation für 20 min bei 37°C wird mit
25 Wasserstoffperoxid eine Konzentration von 1 mM eingestellt und weitere 10 min bei 37°C inkubiert. Zur Kontrolle werden Zellen in einigen Kavitäten nicht mit Wasserstoffperoxid behandelt (keine PARP-Aktivierung) oder erhalten keinen Inhibitor (maximale PARP-Aktivierung). Die Zellen werden einmal mit PBS gewaschen und
30 durch Zugabe von auf -20°C vorgekühltem Methanol/Aceton Gemisch (7 Teile Methanol, 3 Teile Aceton) 10 min bei -20°C fixiert. Danach werden die Zellen getrocknet, durch Zugabe von PBS für 10min bei Zimmertemperatur rehydratisiert und unspezifische Bindungsstellen in PBS mit 0,05 % Tween20 und 5 % Trockenmilchpulver für
35 30 min bei Zimmertemperatur blockiert. Der Maus anti-PAR Antikörper wird in einer Konzentration von 20 µg/ml in PBS mit 0,05 % Tween20 und 5 % Trockenmilchpulver zugegeben und 1 h bei 37°C inkubiert. Nicht gebundener Antikörper wird durch fünfmaliges Waschen mit PBS für jeweils 5 min entfernt. Anschließend wird mit
40 einem verdünnten Ziege anti-Maus FITC-gekoppelten Zweitantikörper (Verdünnung 1:50 in PBS mit 0,05 % Tween20, 5 % Trockenmilchpulver und 1 µg/ml DAPI (4',6-Diamidino-2-Phenylindol)) für 30 min bei 37°C inkubiert. Nicht gebundener Antikörper wird durch fünfmaliges Waschen mit PBS für jeweils 5min entfernt. Die FITC- und
45 DAPI-Fluoreszenzen werden an mehreren Stellen der Kavitäten mit Hilfe eines Fluoreszenzscanners gemessen. Zur Auswertung wird das FITC-Signal auf das DAPI-Signal normiert. Die Berechnung der

IC₅₀-Werte erfolgt nach halblogarithmischer Auftragung der normierten Werte der verschiedenen Inhibitorkonzentrationen. Folgende IC₅₀-Werte wurden bestimmt:

- 5 Beispiel 1: 115 nM
- Beispiel 2: 119 nM
- Beispiel 3: 118 nM

10

15

20

25

30

35

40

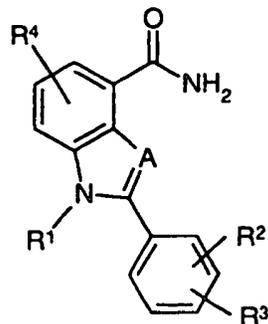
45

Patentansprüche

1. Verwendung von Verbindungen der Formel I

5

10



15

worin

A N oder CH bedeutet,

20

R¹ Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR¹¹ oder eine Gruppe R⁵ tragen kann, wobei

25

R¹¹ Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeutet, und

R² Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Nitro, CF₃, CN, NR²¹R²², NH-CO-R²³, OR²¹, wobei

30

R²¹ und R²² unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeuten und

R²³ Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

35

R³ -(CH₂)_q-NR³¹R³², -(CH₂)_q-NR³³R³⁴ bedeutet, wobei q 0, 1, 2 oder 3 sein kann,

40

R³¹ bedeutet Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, (CH₂)_rNR³³R³⁴

45

R₃₂bedeutet (CH₂)_rNR³³R³⁴,

5 worin bei R³¹ und R³² unabhängig voneinander r 2, 3, 4, 5 oder 6 bedeutet und R³³ und R³⁴ unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, zusammen mit dem Stickstoff gleich einem Ring 3 bis 8 Atomen, der ein zusätzliches Heteroatom ausgewählt aus O, N-C₁-C₄-Alkyl, N-C₀-C₂-Phenyl oder NH tragen kann, Phenyl-C₁-C₄-Alkyl, wobei

10 der Phenylring mit bis zu 3 gleichen oder verschiedenen Substituenten ausgewählt aus der Gruppe C₁-C₆-Alkyl, Halogen, Nitro, SO₂NR³⁵R³⁶ (mit R³⁵, R³⁶ unabhängig voneinander gleich Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder zusammen mit dem

15 Stickstoff gleich einem Ring 3 bis 8 Atomen, der ein zusätzliches Heteroatom ausgewählt aus O, S, SO₂, N-C₁-C₄-Alkyl, N-C₀-C₂-Phenyl oder NH tragen kann), C₁-C₄-Alkoxy, S(O)₀₋₂-R³⁷ (mit R³⁷ gleich Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl). CF₃,

20 (CH₂)₀₋₄-COR³⁷, (CH₂)₀₋₄NR³⁵R³⁶, (CH₂)₀₋₄CONR³⁵R³⁶, (CH₂)₀₋₄OR³⁷-CH₂COOR³⁷,

R⁴

Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Chlor, Brom, Fluor, Nitro, Cyano, NR⁴¹R⁴², NH-CO-R⁴³, OR⁴¹, wobei

25

R⁴¹ und R⁴²

unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeuten und

30

R⁴³

C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

sowie ihre tautomeren Formen, möglichen enantiomeren und diastereomeren Formen, deren Prodrugs, sowie mögliche physiologisch verträgliche Salze

35

zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten, bei denen pathologisch erhöhte Aktivitäten von PARP auftreten.

40 2. Verwendung von Verbindungen nach Anspruch 1, wobei R² in 3-Position und R³ in 4-Position oder R² in 4-Position und R³ in 3-Position zum Benzimidazolring steht.

3. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei R¹ und R⁴ Wasserstoff bedeuten.

45

4. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei
- 5 R² Wasserstoff, verzweigtes oder unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Nitro, CN, NH₂, O-C₁-C₄-Alkyl bedeutet.
5. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei
- 10 R³ (CH₂)_{1,2}NR³⁵R³⁶ und N(R³⁷)-(CH₂)₂₋₃NR³⁵R³⁶ bedeutet, worin R³⁷ Wasserstoff und C₁-C₄-Alkyl sein kann, R³⁵ und R³⁶ unabhängig voneinander Wasserstoff und C₁-C₄-Alkyl und zusammen als NR³⁵R³⁶ auch cyclische aliphatische Amine wie Piperidin, Pyrrolidin, Azepin und Piperazin sein können, wobei das
- 15 Piperazin am zweiten N-Atom noch mit Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl substituiert sein kann.
6. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei R² Wasserstoff und A Stickstoff bedeutet.
- 20
7. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von neurodegenerativen Krankheiten und neuronalen Schädigungen.
- 25
8. Verwendung nach Anspruch 7 zur Behandlung von solchen neurodegenerativen Krankheiten und neuronalen Schädigungen, die durch Ischämie, Trauma oder Massenblutungen ausgelöst werden.
- 30
9. Verwendung nach Anspruch 8 zur Behandlung des Schlaganfalls und des Schädel-Hirntraumas.
10. Verwendung nach Anspruch 8 zur Behandlung der Alzheimerschen Krankheit der Parkinsonsche Krankheit und der Huntington-Krankheit.
- 35
11. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung oder Prophylaxe von Schädigungen durch Ischämien.
- 40
12. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Epilepsien, insbesondere von generalisierten epileptischen Anfällen, wie zum Beispiel Petit mal und tonisch-clo-
- 45

nische Anfälle und partiell epileptischen Anfällen, wie Temporal Lope, und komplex-partiellen Anfällen.

- 5 13. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen der Nieren nach renalen Ischämien und zur Behandlung während und nach Nierentransplantationen.
- 10 14. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen des Herzens nach cardialen Ischämien.
- 15 15. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Mikroinfarkten wie zum Beispiel während und nach Herzklappenersatz, Aneurysmenresektionen und Herztransplantationen.
- 20 16. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung bei einer Revasculariation kritischer verengter Koronararterien wie zum Beispiel bei PTCA und Bypass-Operationen oder kritisch verengter peripherer Arterien, insbesondere Beinarterien.
- 25 17. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung des akuten Myocardinfarktes und von Schädigungen während und nach dessen medikamentöser oder mechanischer Lyse.
- 30 18. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren und deren Metastasierung.
- 35 19. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Sepsis des Multiorganversagens wie zum Beispiel während des septischen Schocks und des "acute respiratory distress-syndroms".
- 40 20. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von immunologischen Krankheiten wie Entzündungen und rheumatische Erkrankungen, wie zum Beispiel rheumatoide Arthritis.

21. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Diabetes mellitus.

5 22. Verbindungen, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)-
benzimidazol-4-carbonsäureamid, 2(4-(N,N-2-(N,N-Dimethyl-
amino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benzimidazol-4-carbon-
säureamid, 2(3(2(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl)-4-nitrophenyl)-
10 benzimidazol-4-carbonsäureamid, deren Prodrugs oder Salze.

15

20

25

30

35

40

45

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/08466

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 C07D235/18 A61K31/4184 C07D209/14 A61K31/404 A61P25/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 7 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 04771 A (NEWCASTLE UNIVERSITY VENTURES LTD) 13 February 1997 (1997-02-13) cited in the application claims	1-22
A	WO 98 06703 A (WARNER LAMBERT CO) 19 February 1998 (1998-02-19) cited in the application claims	1,22
A	DE 35 22 230 A (THOMAE GMBH DR K) 2 January 1987 (1987-01-02) cited in the application claims	1,22
	--- -/-	

Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"B" document member of the same patent family</p>
--	--

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
24 February 2000	24/03/2000

Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3018	Authorized officer Henry, J
---	------------------------------------

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 99/08466

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>GILCHRIST T L: "CYCLISATION OF ORTHO-SUBSTITUTED N-ARYLBENZIMIDOYL NITRENES. PART 2.1 PREFERENTIAL CYCLISATIONS AT AN ORTHO-POSITION BEARING A METHOXYCARBONYL GROUP" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1,GB,CHEMICAL SOCIETY. LETCHWORTH, 1 January 1979 (1979-01-01), pages 2303-2307, XP000605168 ISSN: 0300-922X cited in the application the whole document</p>	1,22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/08466

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9704771 A	13-02-1997	AU 6624096 A	26-02-1997
		CA 2225465 A	13-02-1997
		CN 1195985 A	14-10-1998
		CZ 9800303 A	17-06-1998
		EP 0841924 A	20-05-1998
		HU 9901092 A	28-07-1999
		JP 11510154 T	07-09-1999
		NO 980414 A	02-04-1998
		PL 324869 A	22-06-1998
		SK 13598 A	03-06-1998
WO 9806703 A	19-02-1998	AU 4054197 A	06-03-1998
		EP 0927167 A	07-07-1999
DE 3522230 A	02-01-1987	AU 5893286 A	24-12-1986
		DK 290986 A	22-12-1986
		EP 0209707 A	28-01-1987
		ES 556338 A	01-12-1987
		ES 557240 A	16-05-1987
		ES 557241 A	16-05-1987
		FI 862623 A	22-12-1986
		GR 861583 A	21-10-1986
		HU 42452 A	28-07-1987
		JP 62000471 A	06-01-1987
		NO 862477 A	22-12-1986
		PT 82789 A, B	01-07-1986
		ZA 8604602 A	24-02-1988

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07D235/18 A61K31/4184 C07D209/14 A61K31/404 A61P25/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bez. Anspruch Nr.
X	WO 97 04771 A (NEWCASTLE UNIVERSITY VENTURES LTD) 13. Februar 1997 (1997-02-13) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche	1-22
A	WO 98 06703 A (WARNER LAMBERT CO) 19. Februar 1998 (1998-02-19) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche	1,22
A	DE 35 22 230 A (THOMAE GMBH DR K) 2. Januar 1987 (1987-01-02) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche	1,22
	---	-/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinend zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgetüht)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindertlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindertlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

24. Februar 2000

Abschließdatum des Internationalen Recherchenberichts

24/03/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 6818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Henry, J

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>GILCHRIST T L: "CYCLISATION OF ORTHO-SUBSTITUTED N-ARYLBENZIMIDOYL NITRENES. PART 2.1 PREFERENTIAL CYCLISATIONS AT AN ORTHO-POSITION BEARING A METHOXYCARBONYL GROUP" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1,GB,CHEMICAL SOCIETY. LETCHWORTH, 1. Januar 1979 (1979-01-01), Seiten 2303-2307, XP000605168 ISSN: 0300-922X in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument _____</p>	1,22

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT, DER DEN VERBUNDENEN STAATEN FÜR PATENTEN UNTERSTELT IST

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 99/08466

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9704771 A	13-02-1997	AU 6624096 A	26-02-1997
		CA 2225465 A	13-02-1997
		CN 1195985 A	14-10-1998
		CZ 9800303 A	17-06-1998
		EP 0841924 A	20-05-1998
		HU 9901092 A	28-07-1999
		JP 11510154 T	07-09-1999
		NO 980414 A	02-04-1998
		PL 324869 A	22-06-1998
		SK 13598 A	03-06-1998
WO 9806703 A	19-02-1998	AU 4054197 A	06-03-1998
		EP 0927167 A	07-07-1999
DE 3522230 A	02-01-1987	AU 5893286 A	24-12-1986
		DK 290986 A	22-12-1986
		EP 0209707 A	28-01-1987
		ES 556338 A	01-12-1987
		ES 557240 A	16-05-1987
		ES 557241 A	16-05-1987
		FI 862623 A	22-12-1986
		GR 861583 A	21-10-1986
		HU 42452 A	28-07-1987
		JP 62000471 A	06-01-1987
		NO 862477 A	22-12-1986
		PT 82789 A, B	01-07-1986
		ZA 8604602 A	24-02-1988